

УДК 615.244.036:615.357:616.379-008.64  
DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2016.v0.i4.7256

О. М. Олещук, Я. І. Іванків, О. А. Шумська

ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

## ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ МЕЛАТОНІНУ ТА РОЛІ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА MTNR1B У ПАЦІЄНТІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ

*Обґрунтовано застосування мелатоніну для підвищення ефективності лікування хворих на цукровий діабет 2 типу, враховуючи гепатопротекторні властивості та його вплив на показники вуглеводного обміну. Встановлено взаємозв'язок поліморфізму гена MT2-рецептора, а саме його варіантів rs1387153 і rs10830963, з рівнем глікемії натще та перебігом цукрового діабету 2 типу.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: мелатонін, цукровий діабет, печінка.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ВСТУП. Знання етіології та патогенезу цукрового діабету (ЦД) 2 типу на сучасному етапі дає змогу науковцям розширити способи корекції метаболічних порушень. Лікування пацієнтів має на меті досягнути максимального зниження загального ризику розвитку ускладнень діабету за рахунок підтримання цільового рівня визначених показників вуглеводного обміну та модифікації факторів ризику, ефективного лікування супутніх патологічних станів [10].

Дані літератури свідчать про те, що при діабеті розвиваються різні види ураження печінки, такі, як дистрофія, реактивне запалення, стеатоз, а іноді й явища циротичної перебудови. Діабетична гепатопатія трапляється у 24–88 % хворих і характеризується субклінічним перебігом [8].

Печінка бере участь у регуляції активності інсуліну, це має вагоме значення в патогенезі діабету.

Заданими наукових досліджень, гіпофізарний гормон мелатонін (MT) регулює ендокринну функцію підшлункової залози [3]. Його ефекти здійснюються через специфічні рецептори, що присутні в товщі плазматичної та ядерної мембран клітин-мішеней, виділяють такі типи рецепторів: MT1 (MTNR1A), MT2 (MTNR1B) і MT3 (MTNR1C) [4].

Встановлено також, що MT володіє гепатопротекторними властивостями, які полягають у його здатності нейтралізувати пероксидне окиснення ліпідів печінки і, крім того, підвищувати

активність антиоксидантних ферментів печінки, таких, як супероксиддисмутаза, каталаза, відновлений глутатіон, а також зменшувати рівень сироваткових ферментів – аланін- і аспартат-амінотрансферази (АлАТ, АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), гамма-глутамінтранспептидази (ГГТП) та білірубину [13].

Завдяки своїй багатофункціональності мелатонін відіграє важливу і неоднозначну роль у патогенезі цілого ряду захворювань, у тому числі й при патології печінки [1, 13].

При обговоренні питання щодо оптимального вибору медикаментозного підходу терапії ЦД, то, з практичної точки зору, існує думка, що слід звернути увагу на індивідуальні потреби пацієнтів та їх можливі віддалені переваги [14]. Вагоме значення мають результати молекулярно-генетичних досліджень, які свідчать про те, що активація MTNR1B пов'язана зі сповільненим виділенням інсуліну і зниженням чутливості бета-клітин до глюкози, що збільшує ризик розвитку діабету в осіб із алелем G rs10830963 [9]. Таким чином, можна стверджувати, що від поліморфізму мелатонінових рецепторів залежать рівень глікемії та ступінь пошкодження внутрішніх органів при цукровому діабеті.

Метою дослідження було обґрунтувати гепатопротекторні властивості мелатоніну та встановити наявність поліморфізму гена MT2-рецептора, а саме його варіантів rs1387153 і rs10830963, їх взаємозв'язок із рівнем глікемії

© О. М. Олещук, Я. І. Іванків, О. А. Шумська, 2016.

натще, впливом на стан печінки та патогенез ЦД 2 типу.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Обстежено 15 пацієнтів чоловічої статі віком понад 35 років (середній вік становив  $(52,9 \pm 1,78)$  року), які хворіли на цукровий діабет 2 типу (середня тривалість захворювання –  $(11,6 \pm 0,94)$  року), перебували на стаціонарному лікуванні в ендокринологічному відділенні КЗ ТОР “Тернопільська університетська лікарня”.

Діагноз ЦД верифікували відповідно до рекомендацій Американської асоціації діабету та вітчизняного уніфікованого протоколу медичної допомоги при ЦД 2 типу від 21.12.2012 р. № 1118.

Критерії включення у дослідження: діагноз ЦД 2 типу, чоловіча стать, вік від 35 до 70 років; підписана добровільна інформована згода пацієнта на участь у дослідженні; дотримання низькокалорійної дієти з обмеженням легкозасвоюваних вуглеводів.

Критерії виключення: порушення толерантності до глюкози і глікемії натще; наявність в анамнезі чи на момент включення у дослідження обстежуваних пацієнтів вірусних гепатитів В і С, приймання препаратів із гепатотоксичною дією, алкогольне ураження печінки (встановлений діагноз алкогольного захворювання печінки чи щоденне вживання алкоголю у високих дозах –  $\geq 40$  г етанолу), наявність тяжких захворювань шлунково-кишкового тракту зі станами, що супроводжуються порушенням всмоктування їжі й розвитком гіпоглікемії.

Усі пацієнти дали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні. План обстеження включав збір анамнезу, фізикальний огляд, біохімічний аналіз крові та молекулярно-генетичне дослідження наявності поліморфізму гена MT2-рецептора.

При обстеженні хворих використовували загальноклінічні та лабораторні методики. Показники біохімічного аналізу крові визначали за загальноприйнятими методиками. Стан вуглеводного обміну в сироватці крові хворих оцінювали за рівнем глікемії натще і гліколізованого гемоглобіну (HbA1C), функціональний стан печінки – за показниками цитолізу (визначали активність АлАТ та АсАТ) і холестази (визначали активність ЛФ, ГГТП та концентрацію загального білірубину).

Пацієнти отримували стандартну терапію згідно з протоколом, додатково до лікування включали препарат “Віта-мелатонін” (фірма “Київський вітамінний завод”) по 1 таблетці (3 мг) ввечері перед сном. Порівнювали результати до лікування та через 10 днів.

Проведено молекулярно-генетичне обстеження з метою ідентифікації генетичного поліморфізму гена MT2-рецептора, а саме його варіантів rs1387153 і rs10830963. Використано набір для ідентифікації поліморфізму C/T (rs1387153) (№ R008-A, фірма “Lab Neogene”, Україна) та C/G (rs10830963) (№ R009-A, фірма “Lab Neogene”, Україна) в гені MT2-рецептора методом алель-специфічної полімеразно-ланцюгової реакції.

Статистичну обробку отриманих даних було проведено із застосуванням прикладних програм Statistica у відділі системних статистичних досліджень Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського в програмному пакеті (StatSoft Inc., США), методом варіаційної статистики з використанням критерію Стюдента, статистично достовірними вважали зміни при значеннях  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Було встановлено, що у хворих середній рівень глюкози натще становив  $(11,4 \pm 0,72)$  ммоль/л, HbA1C –  $(8,9 \pm 0,31)$  %.

У таблиці 1 наведено результати порівняльного вивчення показників вуглеводного обміну та функціональної спроможності печінки до і після лікування хворих на ЦД 2 типу.

Порівнявши показники вуглеводного обміну, ми відмітили достовірну різницю глюкози крові натще між двома групами, десятиденне введення мелатоніну сприяло зниженню глюкози на 27,5 %, тобто глікемія наближалась до рівня компенсації діабету.

Вивчення показників біохімічного дослідження стану печінки в пацієнтів із ЦД на тлі проведеної терапії показало, що зміни позитивні, але не вірогідні.

Застосування MT сприяло тенденції до зниження активності маркерних ферментів цитолізу гепатоцитів АлАТ та АсАТ на 21,1 і 20,3 % відповідно, концентрації загального білірубину на 17,8 %, а також активності ГГТП на 21,7 % та ЛФ на 16 % порівняно з вихідними показниками.

Отримані дані свідчать про універсальні протекторні ефекти мелатоніну, здатність втручатись у патологічні процеси будь-якого походження, контролювати обмін вуглеводів і діяльність підшлункової залози.

Результати експериментальних, а також поки що нечисленних клінічних досліджень збігаються з нашими і підтверджують ймовірність існування у мелатоніну захисних, антидіабетичних властивостей [2, 7]. Призначення пацієнтам з інсулінонезалежним діабетом мелатоніну щоденно по 5 мг протягом 1 місяця продемонструвало покращення їх клінічного стану [11].

Таблиця 1 – Результати дослідження біохімічних показників крові хворих на цукровий діабет 2 типу ( $M \pm m$ ,  $n=15$ )

Показник	Група дослідження	
	ЦД	ЦД+МТ
Глюкоза, ммоль/л	11,37 $\pm$ 0,72	8,25 $\pm$ 0,33 $p < 0,01$
АлАТ, Од/л	35,28 $\pm$ 8,39	27,82 $\pm$ 3,79 $p > 0,05$
АсАТ, Од/л	27,33 $\pm$ 5,83	21,79 $\pm$ 2,85 $p > 0,05$
ЛФ, Од/л	100,53 $\pm$ 40,47	84,41 $\pm$ 32,26 $p > 0,05$
Загальний білірубін, мкмоль/л	13,64 $\pm$ 2,44	11,21 $\pm$ 2,16 $p > 0,05$
ГГТП, Од/л	66,49 $\pm$ 20,58	52,07 $\pm$ 15,78 $p > 0,05$

Примітка. У таблиці достовірність різниці показників відносно  $p$  (ЦД).

Показано, що внутрішньочеревне введення мелатоніну при ураженні печінки знижувало прояви як цитолітичного, так і холестатичного синдромів [5].

Таким чином, результати проведеного дослідження довели ефективність мелатоніну в комплексному лікуванні хворих на ЦД 2 типу. Мелатоніну властивий добрий профіль безпечності, жодної побічної дії в ході дослідження не було зафіксовано. Отримані результати щодо показників вуглеводного обміну й функціональної спроможності печінки підтверджують його достатню ефективність і переносимість, оскільки він забезпечує оптимальний контроль рівня глюкози в крові, проявляє гепатопротекторні властивості, знижує прояви цитолізу та холестаза.

Наступним етапом нашого дослідження було встановити наявність поліморфізму гена

MT2-рецептора, а саме його варіантів rs1387153 і rs10830963, та їх взаємозв'язок із рівнем глікемії натще, секрецією інсуліну і перебігом ЦД.

Згідно з результатами, наведеними в таблиці 2, простежується зв'язок між рецептором мелатоніну 1В (rs10830963 і rs1387153) та розвитком діабету. Аallel G локусу rs1387153 виявлено у 2 пацієнтів, що становило 13,3 %, алеля Т локусу rs1387153 не простежувалось у даній групі, алель С локусу rs10830963 відзначено в одного хворого, що складало 6,7 %, алель G локусу rs10830963 – у 4, що відповідало 26,7 %.

Аналіз результатів дослідження показав, що частота MTNR1B (rs10830963) в алелі G більша в пацієнтів із ЦД 2 типу, а також значною мірою пов'язана з підвищеним на 25,4 % ( $p > 0,05$ ) рівнем глюкози у крові натще порівняно з показниками хворих, які не є носіями даного алеля ри-

Таблиця 2 – Ідентифікація поліморфізму C/T (rs1387153) та C/G (rs10830963) в гені MT2-рецептора (MTNR1B) методом алель-специфічної полімеразно-ланцюгової реакції у крові хворих на цукровий діабет 2 типу ( $M \pm m$ ,  $n=15$ )

Хворий на ЦД 2 типу	Алель				Рівень глюкози натще, ммоль/л
	C	T	C	G	
	rs1387153		rs10830963		
1	-	-	-	-	14,6
2	-	-	-	-	10,1
3	-	-	-	-	9,4
4	-	-	-	-	11,6
5	-	-	-	-	10,1
6	-	-	-	-	11,8
7	-	-	-	-	10,4
8	-	-	-	+	18,6
9	-	-	-	-	9,11
10	-	-	+	-	11,77
11	+	-	-	-	7,95
12	-	+	-	-	13,13
13	-	-	-	+	11,0
14	+	-	-	+	10,7
15	-	-	-	-	10,3

зику. Середній рівень глюкози натще у хворих без алеля G локусу rs10830963 становив 10,6 ммоль/л порівняно з 13,4 ммоль/л у пацієнтів із цим алелем.

Наші результати знайшли своє підтвердження в літературі як вітчизняних, так і зарубіжних видань [6, 12].

**ВИСНОВКИ.** 1. Застосування мелатоніну в комплексному лікуванні хворих на ЦД 2 типу

покращує загальний стан пацієнтів. Підтверджено його ефективність і переносимість, оскільки він контролює рівень глюкози в крові натще, володіє гепатопротекторними властивостями, знижує прояви цитолізу та холестазу.

2. Наявність поліморфізму за генотипом алеля G rs10830963 гена MTNR1B характеризується вищим рівнем глюкози у крові пацієнтів натще, але не нівелює позитивного коригувального впливу мелатоніну як на печінку, так і на перебіг цукрового діабету 2 типу.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антонова О. І. Морфологічні особливості печінки при нестачі мелатоніну в різних умовах / О. І. Антонова // Вісн. проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 2 (2). – С. 14–16.

2. Антонюк-Щеглова І. А. Досвід застосування мелатоніну в літніх хворих із цукровим діабетом 2 типу / І. А. Антонюк-Щеглова // Ендокринологія. – 2013. – № 4. – С. 32–38.

3. Арушанян Э. Б. Мелатонин и сахарный диабет (обзор современных экспериментальных данных) / Э. Б. Арушанян // Проблемы эндокринологии. – 2012. – № 2. – С. 35–40.

4. Борисенко О. А. Биологическая роль мелатонина и его клиническое применение / О. А. Борисенко, К. М. Бушма // Мед. новости. – 2011. – № 1. – С. 26–29.

5. Кузнецова Е. И. Использование мелатонина в качестве гепатопротектора при внепеченочном холестазах / Е. И. Кузнецова, И. В. Семак // Биология – наука XXI века : 16-я Междунар. Пуш. шк.-конф. молодых ученых (Пушино, 16–21 апр. 2012 г.) : сб. тез. / Пуш. науч. центр Рос. акад. наук. – Пушино, 2012. – С. 180–181.

6. Мелатонин при сахарном диабете: от патофизиологии к перспективам лечения / В. И. Коненков, В. В. Климонтов, С. В. Мичурина [и др.] // Сахарный диабет. – 2013. – № 2. – С. 11–16.

7. Мелатонин: перспективы применения в клинике / под ред. С. И. Рапопорта. – М. : ИМА-ПРЕСС, 2012. – С. 8–12.

8. Федів О. І. Особливості ураження гепатобіліарної системи у хворих на цукровий діабет II типу / О. І. Фе-

дів, Ю. Ф. Марчук, Л. О. Волошина // Буковин. мед. вісн. – 2008. – № 4. – С. 126–131.

9. Langenberg C. Common genetic variation in the melatonin receptor 1B gene (MTNR1B) is associated with decreased early-phase insulin response / C. Langenberg, L. Pascoe // Diabetol. – 2009. – № 52. – P. 1537–1542.

10. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach: position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD) / S. E. Inzucchi, R. M. Bergenstal, J. B. Buse [et al.] // Diabetes Care. – 2012. – № 35 (6). – P. 1364–1379.

11. Melatonin improves oxidative stress parameters measured in the blood of elderly type 2 diabetic patients / K. Kedziora-Kornatowska, K. Szewczyk-Golec, M. Kozakiewicz [et al.] // J. Pineal. Res. – 2009. – № 46. – P. 333–337.

12. Relationship between melatonin receptor 1B (rs10830963 and rs1387153) with gestational diabetes mellitus: a case-control study and meta-analysis / Q. Liu, Z. Huang, H. Li // Arch. Gynecol. Obstet. – 2016. – № 294. – P. 55–61.

13. Schmidt R. Hepatoprotective actions of melatonin: Possible mediation by melatonin receptors / R. Schmidt // World J. Gastroenterol. – 2010. – № 16 (48). – P. 6087–6097.

14. Screening for type 2 diabetes and population mortality over 10 years (ADDITION-Cambridge): a cluster-randomised controlled trial / R. K. Simmons, J. B. Echouffo-Tcheugui, S. J. Sharp [et al.] // The Lancet. – 2012. – № 380 (9855). – P. 1741–1748.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ МЕЛАТОНИНА И РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА MTNR1B У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

### Резюме

Обосновано применение мелатонина для повышения эффективности лечения больных сахарным диабетом 2 типа, учитывая гепатопротекторные свойства и его влияние на показатели углеводного обмена. Установлена взаимосвязь полиморфизма гена MT2-рецептора, а именно его вариантов rs1387153 и rs10830963, с уровнем гликемии натощак и течением сахарного диабета 2 типа.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: мелатонин, сахарный диабет, печень.

О. М. Oleshchuk, Ya. I. Ivankiv, O. A. Shumska  
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

## RESEARCH OF HEPATOPROTECTIVE MELATONIN PROPERTIES AND THE ROLE OF POLYMORPHISM OF THE GENE MTNR1B IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 2

### Summary

The application of melatonin to improve the treatment of patients with diabetes mellitus (DM) type 2, including hepatoprotective properties and its effect on carbohydrate metabolism were studied. It is established the relationship between gene polymorphism MT2 receptor, namely its variants: rs1387153 and rs10830963 and levels of fasting glucose and type 2 diabetes.

KEY WORDS: melatonin, diabetes mellitus, liver.

Отримано 28.10.16

Адреса для листування: Я. І. Іванків, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: ivankivyai@tdmu.edu.ua.